

CN 1444726A

Dual beam Fourier transformation infrared method and devices for analyte detection in samples of low transmittance

Methods and devices are provided for determining the presence and/or concentration of at least one analyte in a sample of low transmittance. In the subject methods, a forward beam and a backward beam are produced by or introduced into an interferometer from at least one infrared radiation source. The forward beam is passed into the sample and then collected to produce a sample beam, while the backward beam is passed into a reference and then is collected to provide a reference beam. The sample beam and the reference beam are recombined either optically into a null beam which is detected at a single detector, or electronically nulled after detection on two separate detectors. The presence, and often amount, of at least one analyte in the sample is then derived from the detected null beam. Also provided are devices for practicing the above methods. The subject methods and devices are suitable for use in a variety of different applications, including the detection of the presence, and amount of one or more blood analytes in a physiological sample, such as blood, tissue or derivatives thereof.

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

G01N 21/35

G01J 3/453 A61B 5/00



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01813602.8

[43] 公开日 2003 年 9 月 24 日

[11] 公开号 CN 1444726A

[22] 申请日 2001.5.17 [21] 申请号 01813602.8

[30] 优先权

[32] 2000.6.1 [33] US [31] 09/586,692

[86] 国际申请 PCT/US01/16204 2001.5.17

[87] 国际公布 WO01/92857 英 2001.12.6

[85] 进入国家阶段日期 2003.1.29

[71] 申请人 生命扫描有限公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 M·P·德布雷策尼

M·P·奥内尔

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

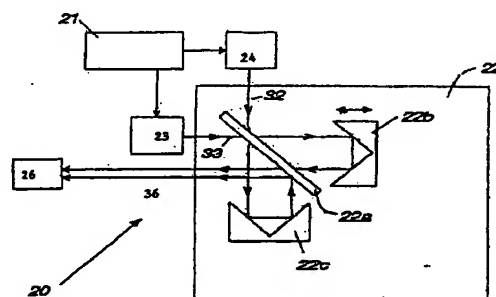
代理人 杨 凯 张志醒

权利要求书 2 页 说明书 18 页 附图 9 页

[54] 发明名称 用于低透射率样品分析物检测的双束傅立叶变换红外方法和设备

[57] 摘要

提出了用于测定低透射率样品中至少一种分析物的存在和/或浓度的方法和设备。在这些方法中,由至少一个红外辐射源产生前向束和后向束或将其引入到干涉仪中。前向束通过样品、然后被收集、产生样品束,而后向束通过参照物、然后被收集、产生参照束。样品束和参照束或者光学重新组合成为零束、由单一检测器检测,或者通过两个单独的检测器检测后用电子方法归零。然后从检测到的零束推导出至少一种分析物的存在、更经常是推导出其浓度。还提出了实现上述方法的设备。本方法和设备适用于各种不同的应用,包括检测生理样品(如血液、组织及其衍生物)中一种或多种分析物的存在和数量。



1. 一种测定低透射率样品中分析物浓度的方法，所述方法包括：  
(a) 从低透射率样品中产生样品束，从参照物中产生参照束；  
5 (b) 从所述样品束和参照束产生零信号；以及  
(c) 从所述零信号推导出在所述低透射率样品中所述分析物的存在。

2. 如权利要求1所述的方法，其特征在于：所述方法包括利用由至少一个红外辐射源产生的前向束和后向束来产生所述样品束和参照束。  
10

3. 如权利要求1或2所述的方法，其特征在于：所述方法还包括使光通过干涉仪。

4. 如权利要求1，2或3所述的方法，其特征在于：所述前向束和后向束是由单一红外辐射源产生的。

15 5. 如权利要求1，2或3所述的方法，其特征在于：所述前向束和后向束是由两个红外辐射源产生的。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的方法，其特征在于：所述零信号是通过在单一检测器检测之前组合所述样品束和参照束用光学方法产生的。

20 7. 如权利要求1-5中任一项所述的方法，其特征在于：所述零信号是所述样品束和参照束在两个分开的检测器上检测后以电子学方法产生的。

8. 如权利要求1所述的方法，其特征在于所述方法包括：

- (a) 用干涉仪从单一红外辐射源产生前向束和后向束；  
25 (b) 将所述前向束引导到所述低透射率样品并且将所述后向束引导到参照物，并分别收集样品束和参照束；  
(c) 组合所述样品束和参照束，产生零束；  
(d) 用单一检测器检测所述零束，获得检测到的零信号；以及

(e) 从所述检测到的零信号推导出在所述低透射率样品中所述分析物的存在。

9. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于所述方法包括：

(a) 从至少一个红外辐射源产生前向束和后向束；

5 (b) 引导所述前向束通过所述低透射率样品并且引导所述后向束通过参照物，以分别产生样品束和参照束；

(c) 将所述样品束和参照束引入干涉仪，在它们从所述干涉仪出来后由所述样品束和参照束产生零信号；以及

10 (d) 从所述零信号推导出在所述低透射率样品中所述分析物的存在。

10. 如上述权利要求中任何一个所述的方法，其特征在于：所述低透射率样品是高反射样品和高吸收样品中的至少一种。

11. 如权利要求 10 所述的方法，其特征在于：所述样品是生理样品。

15 12. 如权利要求 11 所述的方法，其特征在于：所述生理样品是从由血液、组织或其衍生物组成的组中选择的。

13. 如上述权利要求中任何一个所述的方法，其特征在于：所述参照物包括水。

20 14. 如上述权利要求中任何一个所述的方法，其特征在于：所述分析物是葡萄糖。

15. 一种用于测定低透射率样品中分析物浓度的双束红外分光计设备，所述设备包括：

从至少一个红外辐射源产生前向束和后向束的装置；

从所述前向束和后向束产生样品束和参照束的装置；以及

25 从所述样品束和参照束产生零信号的装置。

## 用于低透射率样品分析物检测的 双束傅立叶变换红外方法和设备

5

### 引言

#### 发明领域

本发明的领域是分析物检测和定量。

10

#### 发明背景

15

组织或液体的生理样品中，例如血液或血液制成品中分析物的检测对当今社会日益重要。分析物检测化验广泛使用于各种应用之中，包括临床实验室测试，家庭测试等，这些测试的结果在诊断和管理各种病情中起着主要的作用。重要的分析物包括酒精，甲醛，葡萄糖，谷氨酸，甘油， $\beta$ -羟基丁酸盐，L-乳酸盐，亮氨酸，苹果酸，丙酮酸，类固醇，抗坏血酸，丙酮和其它酮体，叶酸盐，氨，胆红素，肌酸酐，血红蛋白，类脂物，苯基丙氨酸，蛋白质(包括白蛋白和球蛋白)，甘油三酸脂，尿素，以及滥用的药物和毒品。在这方面，分析物测试对当今社会日益重要。

20

血液分析物的浓度可以用各种不同的方法监控，但越来越重要的是用非侵入性方法来监控血液分析物的浓度。例如，由于在管理糖尿病方面的重要性，许多研究和努力都用在了开发监控血液分析物浓度的非侵入性的方法和设备上。

25

测量血糖的一种非侵入性方法涉及使用近红外分光学，其中，使近红外波长区的光通过样品或从样品反射，所发射的信号用于推导出样品中分析物的浓度。用近红外分光学监控血液分析物(包括血糖)的许多非侵入性装置在业界已众所周知，包括在有关文献部分中

列出的参考资料所介绍的那些设备。

5 为了测量在近红外光谱的各个波长区样品对光的吸收，需要一种分离波长成分的方法。先有技术中说明的这种方法包括滤光轮，基于折射光栅的分光计，声-光可调谐滤光器(AOTF)，以及傅立叶变换红外分光计。如果分析物吸收光的能力很强，而且用分光法很易区别，则滤光轮装置就可提供足够的分立的波长来测定分析物的浓度。但如果在复杂的混合物中分析物是一种对光的吸收很弱的成分，例如组织中的葡萄糖，则必须分别分析大量的(大于10个，更通常是大于100个)分立的波长区才能测定分析物的浓度。

10 在这种情况下，可以使用基于折射光栅的、AOTF或FTIR分光计将光谱分解为多个波长区。除了测量技术的波长分辨率外，对高散射样品的一个重要考虑就是通过分光计的光通量。在具有单个检测元件的基于折射光栅的分光计中，分光计的光通量与波长分辨率成反比。于是，如果要分辨大量的波长区，到达检测器的光的数量就很小。可以使用检测器阵列以增加分光计的光通量，但这种对近红外波长具有高灵敏度的阵列通常相当昂贵。而且，阵列中不同检测器元件的校准和漂移成为分析物测定中不精确的来源。

20 在AOTF分光计中，是用调谐滤光器的方法对各个波长区分别进行测量。由于不是同时测量整个的光谱，所以样品随时间的变化就可能使测量的光谱失真。而且，与同时测量整个光谱的技术相比，需要分别测量波长区会导致光通量的损失。

25 FTIR分光计只使用单个检测器就具有高的光通量以及高的波长分辨率的优点。这样，对于含有分析物的复杂混合物的低透射率的样品，与滤光轮，AOTF，基于光栅的分光计等相比，FTIR更具优越性。虽然近红外FTIR装置和方法在非侵入性分析物检测领域显示了很好的前景，但如果这种装置要成为市售产品，还需要克服一些技术障碍。这些技术障碍包括：仪器漂移问题，需要超高精度的模-数变换器，等等。

因此，在开发基于近红外的分析物浓度检测的新方法和设备方面一直有不间断的兴趣。

双束傅立叶变换红外 (DB-FTIR) 分光学在美国专利 No. 4,999,010 中，以及在以下文章中有所说明：Beduhn & White, Applied Spectroscopy (应用分光学) (1986) 40: 628-632, Kuehl & Griffiths, Anal. Chem. (分析化学), (March 1978) 50: 418-422, P.R. Griffiths and J.A. de Haseth, 傅立叶变换红外分光学, Chemical Analysis, Vol. 83 (1986) John Wiley and Sons, New York, pp 298-311. 也可参考：FTIR: 傅立叶变换红外：持续发展的技术, Sean Johnston, Ellis Horwood, New York, (1991), pp 260-274. 基于红外分光学的非侵入性血液分析物检测协议在以下美国专利中有所说明：美国专利号 6,016,435; 6,002,953; 5,957,841; 5,945,676; 5,830,132; 5,574,283; 5,424,545; 5,237,178; 5,222,496; 5,204,532; 以及 4,882,492; 这些专利的内容已作为参考包括在本文中，以及 Klonoff, “非侵入性血糖监控”, Diabetes Care (March, 1997) 20Z (3): 433-7.

### 发明概述

本发明提出了在低透射率样品中测定至少一种分析物的存在和/或浓度的方法和设备。在所述方法中，前向束和后向束由至少一个红外辐射源产生或被引入到干涉仪中。使前向束进入样品然后收集，产生样品束，而使后向束进入参照 (样品) 然后收集，产生参照束。样品束和参照束或者光学再组合成为零束、由单个检测器检测，或者通过两个分开的检测器检测后用电子学方法归零 (nulled)。然后从检测的零束推导出样品中至少一种分析物的存在，而更经常是其数量。本发明还提出了实现上述方法的设备。这些方法和设备适用于各种不同的应用，包括检测生理样品 (例如血液，组织或其衍生物) 中的一种或多种血液分析物的存在和数量。

## 附图简介

图 1 示出人体前臂漫反射光谱(前向束)和水透射参照束(后向束)以及从它们得到的零束。

5 图 2 示出根据本发明的一种设备的示意图,对于与光起强散射相互作用的样品特别有用。

图 3 示出根据本发明的一种设备的示意图,对于与光起弱散射但强吸收的相互作用的样品特别有用。

10 图 4A 和 4B 示出分别用单束 FTIR(先有技术的方法)和双束 FTIR(本发明)测量的多分析物水溶液的光谱。

图 5 示出用单束 FTIR(先有技术的方法)和双束 FTIR(本发明)测量的多分析物水溶液中预计的和参照的葡萄糖浓度的比较。

15 图 6 示出从利用单束 FTIR(先有技术的方法)和双束 FTIR(本发明)技术测量多分析物水溶液的测量结果导出的葡萄糖浓度预计的标准误差与因素数目之间的关系的曲线表示。

图 7A 和 7B 示出用单束 FTIR(先有技术)和双束 FTIR(本发明)技术在数周内测量的多分析物溶液中葡萄糖的浓度的曲线表示(预计值与参照值的关系)。

## 20 具体实施例的说明

本发明提出了在低透射率样品中测定至少一种分析物的存在和/或浓度的方法和设备。在所述方法中,前向束和后向束由至少一个红外辐射源产生或引入到干涉仪中。使前向束进入样品,产生样品束,而使后向束进入参照(样品),产生参照束。样品束和参照束或者以光学方式再组合成为零束、由单个检测器检测,或者通过两个  
25 检测器检测后用电子学方法相消(nulled)。然后从检测的零信号推导出样品中至少一种分析物的存在、而更经常是其数量。本发明还提出了实现上述方法的装置。这些方法和设备适用于各种不同的应



用, 包括检测生理样品(例如血液, 组织或其衍生物)中的一种或多种血液分析物的存在和数量。首先将说明此方法, 接着概述所述方法的代表性装置并概述本发明的各种代表性的应用。

5 在进一步说明本发明之前, 应理解本发明不限于下述的具体实施例, 可以对具体实施例作改动并仍属于所附的权利要求书范围之内。还应理解所使用的术语是为了说明具体实施例, 而绝不是为了进行限制。本发明的范围由所附的权利要求书确定。

10 在本说明书和所附权利要求书中, 除非文中另有明确说明, 单数的参考符号都包括多数。除非另有定义, 本文所用所有技术和科学术语的意义与具有对本发明所属技术领域有一般了解的人所理解的意义相同。

## 方法

15 如上所述, 本发明提出了在低透射率样品中测定至少一种分析物的存在和/或浓度的方法。具体地说, 本发明提出一种利用傅立叶变换红外(FTIR)分光光学测定样品中一种分析物的存在、甚至浓度的方法。更具体地说, 本方法是在低透射率样品中测定至少一种分析物(例如组织样品中的葡萄糖)的存在和浓度的双束 FTIR(DB- FTIR)方法。

20 在实现此方法时, 第一步是由至少一个红外辐射源产生前向束和后向束, 当前向束和后向束组合时, 产生交流信号的抵消(或归零)以及直流信号的加倍。本方法采用的红外辐射可以从能在所需的红外波长内提供辐射的任何常规红外辐射源获得, 特别重要的波长范围从约  $0.7\mu\text{m}$  到  $3\mu\text{m}$ , 经常是从约  $1.3\mu\text{m}$  到  $2.4\mu\text{m}$ 。

25 在一个实施例中, 干涉仪用于从初始的单一的红外辐射源产生前向束和后向束。前向束和后向束的特征在于, 在从干涉仪出来时, 它们彼此准确互补。即, 在离开干涉仪时后向束的相位相对于前向束相差  $180^\circ$ 。然后, 由干涉仪产生的前向束和反向束分别进入样品

和参照物，产生样品束和参照束。

在另一实施例中，在进入干涉仪前用两个光源产生前向束和后向束。两个光源可以用分束器或类似的光学装置从单一光源得到。然后前向束和反向束分别进入样品材料和参照材料，产生样品束和参照束。然后将样品束和参照束引入干涉仪。

在某些实施例中，前向束进入的样品是低透射率的样品。低透射率样品是指样品具有高辐射损耗的特征，例如超过 80% 的辐射损耗，通常至少为大约 99%，更经常是大约 99.9%。用本方法可以分析的低透射率样品可以是高吸收的，高散射的，或是兼有二者的。

本方法可以用来分析各种不同的样品。样品可以是自然发生的也可以是合成的制品。本方法可以分析的有代表性的样品包括：工业产品，农业产品，环境和废弃产物等等。感兴趣的样品材料包括：固体和液体毒品配方，精细化学制品，塑料，聚合物，薄膜特别是含有痕量分析物，例如酶，油漆以及其他化学或物理复层的薄膜，液体产品包括石油及其各种馏分，包括加热用油和汽油，矿物质，天然和合成宝石例如钻石，特别是呈粉末状的，液体的制造废弃物，天然和合成纤维，小麦和其他谷物，牛奶和奶制品，蛋，肉和其它食品，液体和固体肥料，湖泊和其它湖沼沉积物，以及有机试样。在本方法的许多实施例中，样品为生理样品。生理样品是指从活的多细胞的有机体中含有的，获得的或导出的材料的样品。在许多实施例中，样品是组织样品或其衍生物。在其它实施例中，样品是生理液体样品，例如血液，或其衍生物。根据采用的具体协议，样品可以是从中取样的多细胞器官的一部分，或从中分离出来的。

参照物可以是任何种类的材料或其合成物，它提供的参照束在样品束和参照束组合时能将样品束中至少部分(在许多实施例中基本上是全部)非样品成分抵销(null)，如下所述。只要符合上述参数，参照材料或单元的性质可根据样品的性质而大不相同。在许多实施

例中，参照物是含水组合物，其中，所述组合物可以是纯水、水溶液或水分散体。在样品是组织的实施例中，参照物可以有纯水或其中含有组织样品中存在的一种或多种成分的水，例如代谢物，蛋白，类脂物，核酸等，以及其他模拟组织散射性能的成分，例如模拟组织散射性能的试剂。在样品是组织的许多实施例中，参照物包含一种以水为主要成分的固体材料。在参照材料是液体组合物时，通常置于适当的容器中。适当的容器可以由二氧化硅，氟化钙，infrasil，晶体石英等制成。

在本方法中采用的参照材料可以是包含在具有可变路径长度或恒定路径长度的单元中的一种液体。当参照单元具有静态或恒定路径长度时，参照单元的路径长度，即反向束通过参照单元所经过的距离，一般至少约为  $5\mu\text{m}$ ，通常至少约为  $100\mu\text{m}$ ，更经常是至少  $1\text{mm}$ ，其中所述距离可能长达  $1\text{m}$  或更长，但在许多实施例中不超过  $1\text{cm}$ ，且通常不超过  $2\text{mm}$ 。当参照单元具有可变路径长度时，参照单元的长度一般可调节多达一个数量级，在某些实施例中，一般可在至少  $1\text{cm}$  距离内调节，经常是在  $1\text{mm}$ ，更经常是在  $100\mu\text{m}$  的距离内调节。这样，路径长度的变化可多达一个数量级。但在许多实施例中，如果有路径长度的变化，此变化的系数一般不超过  $100\%$ ，经常不超过  $30\%$ ，更经常的是不超过  $10\%$ 。

或者，参照材料是一种固体散射材料。可以使所述参照材料的光学散射和吸收特性与样品相匹配。对于诸如组织等样品，参照材料可以是一种以水为主要成分的固体，例如明胶。另一种类型的参照材料可以包含多种单独的材料。例如，可以使反向束射入各种材料并从中反射来产生参照束。

在许多实施例中，在这方面进行调节以便使两个束的能量基本上均衡，因而获得最佳零位。“使两个束的能量基本上均衡”是指调节在本方法中使用的设备的各种参数以获得能量上的变化小于  $10\%$ ，通常小于  $5\%$ ，更经常是小于  $2\%$  的参照束和样品束。“最佳零

位”是指归零比至少为 5: 1, 通常至少为 20: 1, 更经常至少为 50: 1 的零位, 其中归零比可高达 200: 1 或更高, 但一般不超过 50: 1。

“归零比”是指: 前向束中能量的已调制 (A. C. 分量) 除以组合束中能量的已调制 (A. C. 分量)。为获得最佳归零比可进行的调节包括:

5 调节参照单元路径长度和/或调节样品束和参照束在重新组合或平行校准时的重叠使之成为单个的零束; 用可变衰减器调节样品束或参照束的强度 (在所述领域众所周知的两种可变衰减器实例是: 圆形梯度金属涂复衰减器和爪形衰减器) 以及调节参照材料的成分 (例如, 如果参照单元含有多种成分, 改变参照单元中各组分的相对浓度)。

10 如果调节参照单元的路径长度, 最多可调节一个数量级。但在许多实施例中, 调节的大小一般不超过 1mm, 通常大约为 0.5mm, 更经常是 50 $\mu$ m。

本方法的下一步就是检测零束。在一个实施例中, 参照束和样品束在检测器前的某一点以足以产生零束的方式组合成单束, 所述

15 零束的特征在于至少一部分非分析物成分不再存在, 即它们被抵消了。一般, 可用任何合适的光束引导工具, 例如反射工具, 分束器/准直器, 光纤等将两束重新组合为单一的零束。或者, 可以单独检测参照束和样品束然后以电子学方法将它们组合。在本发明的双光源实施例中, 参照束和样品束进入干涉仪的前向和后向端口, 接着

20 检测输出束。

在检测器检测光束之后, 下一步就是推导出有关样品中所感兴趣的一种或多种分析物的存在 (常常还有数量) 的信息。在推导步骤中, 检测的 A. C. 信号通常被放大而信号中的 D. C. 分量被剔除, 信号中的 A. C. 分量用 AD 变换器从模拟信号转换为数字信号, 得到的数

25 字信号由电脑处理, 以提供关于分析物在样品中的存在和浓度的信息。

作为在单一检测器上平衡两束的光学强度的替代方案, 前向束和后向束可以单独检测, 并用电子学方法平衡和组合。电子信号可

以用加法放大器组合。在此实施例中，如果要得到高的归零比，两个检测器的光谱响应必须类似，这是非常重要的。在本发明的又一实施例中，可以使用两个光源和两个检测器。

5 上述方法可以用能提供必须的前向和后向束，能固定感兴趣的样品和参照物，并能将样品和参照束重新组合成零束的任何合适的装置来实现。以下详细说明适用于实现本发明的代表性装置。

### 设备

适用于实现本方法的设备至少包括以下部件： (a) 红外辐射源；  
10 (b) 干涉仪，用于产生前向和后向束或将前向和后向束引入干涉仪；  
(c) 参照材料； (d) 取样器具或装置，例如容器，或视样品性质而定的其它装置； (e) 从参照束和样品束产生零信号的装置；以及 (f) 检测器。此设备还可包括一个或多个在本发明中会用到的附加部件，  
15 例如模数变换器 (ADC)，以及数字数据处理或计算工具等。现结合图 2 和图 3 详细说明所述设备的这些元件，图 2 和图 3 示出了本发明的代表性设备。

在图 2 和图 3 中，设备 20 包括红外辐射源 21。红外辐射源可以是任何合适的光源，例如白光源，加热灯丝，金属碳化物棒等，只要它能发射具有所需波长光谱的红外光 (即波长在 0.7 到 50 微米的光) 就行。  
20

在设备 20 中还有 Michelson 干涉仪 22，在图 2 的设备中，它能接受前向束 32 和后向束 33，在图 3 的设备中，它能将来自红外辐射源 21 的入射光束 31 转换成前向束 32 和后向束 33。Michelson 干涉仪通常包括分束器 22a、移动镜面 22b 和固定镜面 22c 以及任选的用于将前向束导入或导出干涉仪的附加镜面。图中还示出了光学组织  
25 样品 24，可变路径参照物 23 和检测器 26。

参考图 3 的设备，干涉仪 22 的分束器 22a 产生前向束 32 和后向束 33。前向束 32 从一个方向被引出干涉仪而后向束 33 沿辐射源

21 的入射光的路径引出干涉仪。后向束不一定要与入射光的路径重叠。例如，如果用直角镜片代替干涉仪中的固定和移动镜面，则后向束的路径就会偏离入射光的路径。此时不需分束器就可收集后向束。这种布局的优点是在收集后向束时入射光没有损耗，与单束方法相比，收集光的总量加倍。能提供直角镜片作干涉仪镜面并容易接入后向束的市售干涉仪是 Bomem Model MB-100。可以使用任何合适的干涉仪，适用的干涉仪包括：在 Perkin-Elmer 2000 FTIR 分光计中使用的干涉仪等。

仍参考图 3 的装置，在辐射源的入射束中设置分束器 25，当入射束从干涉仪中出来时它与后向束相重合。分束器 25 足以引导部分后向束离开入射光路径，这样至少有一部分离开干涉仪的后向束能被引导通过可变路径长度参照单元 23。分束器 25 一般是 3%反射器，经常至少是 1%反射器，此处，分束器可反射高达 50%或更高，但通常不超过 50%。可以使用任何合适的分束器，例如未涂复的  $\text{CaF}_2$ ，部分金属化的玻璃或石英等等。然后用任何合适的装置，例如反射器或镜面，将后向束中的重新引导部分引导到参照材料。

可变路径长度参照单元 23 在许多实施例中是可变路径长度的水单元，在参照单元中的水组合物中可能包括也可能不包括附加组合物，例如蛋白，类脂物，代谢物，糖等，根据需要而定。本设备中可能使用的可变路径长度的水单元的代表性实例是配有氟化钙窗口的可变路径长度透射水单元。参照束 34 来自可变路径长度参照单元。利用抛物面反射器 41a 和 41b 以及镜面 41c 来引导后向束和参照束。

最理想的是参照材料的光学性能和样品的光学性能十分匹配。例如，如果样品是组织，可以将反向束引入高度散射的参照材料，并从中收集漫反射的光用作参照束。除了高度散射以外，参照材料可以含有类似水的吸收特性，也可含有诸如因骨胶原，弹性硬蛋白，类脂物等引起的吸收特性而与组织的特性更好地匹配。含有水，骨胶原和可能其他材料的凝胶材料可以作为适合的参照材料。为了最

佳匹配,可以调节水和骨胶原的含量以及参照材料的其他成分以匹配被检测的具体组织样品。

5 另一种使参照材料的光学特性与诸如组织等复杂样品的光学特性相匹配的方法是通过多种材料来传输和/或反射反向束。例如,可使反向束的传输通过两个可变路径长度单元,一个含有水,另一个的水中含有类脂物,然后反射和收集从散射材料漫反射的光。水和含类脂物传输单元的路径长度可以加以调节以匹配样品的光学特性。

10 前向束 32 在通过分束器 25c 引导后,由抛物面反射器 42 从干涉仪引导到含有待分析样品的样品容器 24。样品容器视所含样品的特性及使用的参照物的性质而各不相同。由任何合适的材料制成的任何合适的样品容器都可使用。在许多实施例中,样品容器是一种组织样品容器,或是将前向束引导到组织样品的装置。样品束 35 从样品中产生,并由抛物面反射器 42b 和镜面 42c 引导。

15 光纤装置特别适合于发送和收集来自组织和其他散射材料的光。前向束一般聚焦到单光纤或一束光纤上,使输入光束的焦点与光纤的数值孔径很好匹配。光纤材料本身在所关心的光学区域中应基本上是透明的。为了有效地注入光线,光纤或光纤束应紧靠样品,最好与样品直接接触。然后用单独的光纤或光纤束收集注入的光。  
20 收集束通常是环形布置,围绕输入光纤。或者,收集光纤或光纤束可以设置在输入光纤的环形圈的中心。输入和收集光纤也可以布置成随机的或有序的网格。为了增加光通量,可以以相对于样品平面的非正交角度设置输入和输出光纤。在输入和输出光纤之间可以设置与样品接触的不透明的屏蔽,以便防止光线还没有首先通过样品  
25 就直接从输入光纤到达输出光纤。

如图 3 所示,参照束和样品束,分别为 34 和 35,在第二分束器 25b 处重新组合,分束器 25b 和第一分束器 25 可以是、也可以不是同一类型。分束器 25b 应足以重新组合参照束和样品束以产生零束。

或者, 参照束和样品束可以不用分束器而直接在检测器表面重新组合。直接重新组合的一个方便方法是使利用光纤取样器获得的参照束和样品束紧靠或直接接触检测器。只要参照束和样品束的强度匹配很好, 且检测器区域等于或大于样品和参照光纤照射的区域, 就可获得极佳的零位。

在图 2 所示的设备中, 用单一光源和分束器在干涉仪之前产生前向和后向束。和图 3 所示的设备一样, 前向和后向束与样品和参照材料分别相互作用, 产生样品束和参照束。但是, 不像在图 3 所示的设备中在干涉仪后重新组合, 现在将样品束和参照束注入 Michelson 干涉仪的两个端口, 它们在干涉仪内重新组合。

在图 2 和图 3 所示的设备中, 将出现的零束 36 引导到检测器 26 上, 也任选择通过透镜 26(a) 将零束聚焦到检测器上。检测器是一个能将入射的零束转换为模拟信号的检测器。可以使用各种合适的检测器, 适用的检测器包括砷化镓(InGaAs), 锑化铟(InSb), 锗等等。

检测器产生的模拟信号的 A.C. 分量由放大器 27 放大而 D.C. 分量被剔除, 放大器 27 的增益设定为满足同在该设备中的模数变换器(ADC) 28 的要求。任何合适的放大器都可以适用在所述设备中, 代表性的放大器包括: AD797 等。ADC 可以是任何合适的 ADC。由于所述设备的性能, ADC 不必是超高精度的 ADC, 而只需要是 16 位的 ADC。ADC 的数字输出然后由数据处理装置 29 处理, 例如计算装置, 它能获取数字信号并推导出样品中分析物的存在, 更经常的是样品中分析物的数量。

处理数字信号的优选方法包括以下步骤:

(1) 任选的初始步骤: 从双束样品干涉图中(在前向束中用样品测量, 在参照束中用背景材料测量)减去双束背景干涉图(在前向和后向束中都用背景材料测量), 得到校正的双束样品干涉图。



(2) 对双束样品干涉图(或者已按第一步校正,或者未校正)进行傅立叶变换,于是干涉图变换为双束样品光谱。

(3) 随任选的初始步骤 1 而定的任选的随后步骤:对单束样品干涉图(在前向束中用样品测量,后向束阻塞)进行傅立叶变换,得到单束样品光谱。

(4) 双束样品光谱算法的计算,得到双束样品伪吸收率光谱。

(5) 随步骤 3 而定的任选的随后步骤:单束样品光谱算法的计算,随后从双束样品伪吸收率光谱中减去此光谱,得到双束样品吸收率光谱。

(6) 将吸收率或伪吸收率光谱乘以比例函数,得到比例吸收率光谱。

(7) 从比例吸收率光谱减去平均光谱,得到以平均值为中心的比例吸收率光谱。

(8) 将以平均值为中心的比例吸收率光谱中的每个光谱点乘以回归系数。

(9) 将步骤 8 中所有光谱点的结果相加,得到样品中分析物浓度的预计(值)。

比例函数,平均光谱以及回归系数都在校准阶段确定。校准阶段涉及到测量分析物浓度已知的样品的双束 FTIR 光谱。比例函数,平均光谱以及回归系数的确定应使已知的分析物浓度与从双 FTIR 光谱预计的分析物浓度之间的差别减至最小。实现上述的技术在所述领域已众所周知,这些技术包括部分最小平方和主分量回归。这两种技术在“多元校准”(Multivariate Calibration)H. Martens 和 T. Naes, Wiley and Sons, New York (1989)一书中有深入的讨论。

上述设备可以是实验室设备的装置,或小型化设备供现场使用,例如医生办公室,家庭使用等。

## 实用性

本方法和设备可以用在需要检测并测定低透射率样品中一种或多种分析物浓度的各种不同的应用中。在这方面，本方法和设备可用于检测各种不同类型样品中的分析物，例如环境样品例如土壤和水中的污染物或有毒物质，农业和食物产品中的有毒物质或病原体，检测工业产品中的杂质等等。一种特别重要的应用就是用本发明的方法和设备来检测在活体内和不在活体内的生理样品(如血液，组织或其衍生物)中一种或多种血液分析物。

用本方法可以检测各种不同的分析物，有代表性的分析物包括：酒精，甲醛，葡萄糖，谷氨酸，甘油， $\beta$ -羟基丁酸盐，L-乳酸盐，亮氨酸，苹果酸，丙酮酸，类固醇，抗坏血酸，丙酮和其它酮体，叶酸盐，氨，胆红素，肌酸酐(肌酸酐)，血红蛋白，类脂物，苯基丙氨酸，蛋白质(包括白蛋白和球蛋白)，甘油三酸脂，尿素，以及滥用的药物和毒品。虽然原则上本方法可以用来测定各种不同的生理样品(例如尿，眼泪，唾液等)中一种分析物的存在及其数量，但是，它特别适用于测定血液或一丁点血液以及组织或一丁点组织中分析物的浓度。一个特别重要的应用就是用本发明的方法和设备来检测在活体内和不在活体内的组织样品中葡萄糖的存在并测定其数量。

按本方法检测血液分析物可以应用在各种不同的医学应用中，包括疾病诊断，疾病管理等。

现提供以下实例，作为说明，而非作为限制。

## 实验

### I. 在弱散射水性样品中分析物的检测

对于弱散射强吸收的样品，例如与近到中红外波长的光相互作用

用的分析物(如血浆)的水溶液,前向束和后向束均可采用透射方式。举例来说,我们对含有与生理有关的三种分析物(肌酸酐,葡萄糖和尿素)的水性溶液作了单束(先有技术)和双束 FTIR 的预计能力的比较。

- 5 用来进行实验的仪器配置示于图 3。将市售的单束 FTIR 分光计 (Perkin Elmer Spectrometer 2000) 改作双束仪器使用。仪器置于大气环境中 ( $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $40 \pm 5\% \text{RH}$ )。用 50% “圆点花纹” (polka dot) 分束器 (Oriel Instrument, model no. 38106) 分离光源和后向束。前向束也由 50% “圆点花纹” 分束器反射, 以均衡两个光束的强度。
- 10 复金抛物面反射器分别将前向束和后向束聚焦到样品和参照单元上。样品和参照单元的路径长度为 0.5mm, 是由它们的透明石英窗口之间的间距来定义的。样品和参照单元的温度调节到  $22.0^\circ\text{C} \pm 0.1^\circ\text{C}$ 。然后用复金抛物面反射器重新准直前向束和后向束。然后用 50% “圆点花纹” 分束器组合此两个光束, 并用硅透镜 (2" 直径, 约 25mm 焦距) 将光束聚焦到 InSb 检测器上 (7 mm 直径有效区, 冷却到 77K)。

- 信号中的 D.C. 分量被去除, A.C. 分量被放大到接近符合模数 (A/D) 变换器的要求。本组实验的零位比大约为 40: 1。因此用双束信号符合 A/D 变换器所需的放大约为用单束信号的 40 倍。将每个样品的单束和双束干涉图逐个交错。按照已经描述的步骤 (包括任选步骤) 处理光谱 (见 “装置” 一节)。
- 20

- 由含有肌酸酐, 尿素和葡萄糖的 27 种溶液组成的样品以三种浓度溶于水中: (肌酸酐 370, 650 和 930 mg/dL; 尿素 230, 585 和 940 mg/dL; 葡萄糖 0, 250 和 500 mg/dL)。参照单元含纯水。整组 27 种溶液共测三天, 每天测一次。这三个测量日共跨越大约 7 周。含纯水的样品用作背景样品。背景样品在每组 27 种溶液的测量开始和结束时进行测量。27 种溶液在每个测量日当天新配制并以不同的随机顺序进行测量。
- 25

与水相比, 三种分析物的光吸收很弱。这样, 27 种样品的单束光谱用肉眼几乎无法区分。相反, 双束光谱中实际上由于光学归零 (optical nulling) 效果, 灯发射光谱和水吸收效果已大部分去除, 故双束光谱显示出清晰而明显的随分析物浓度的变化而发生的光谱变化。图 4A 和 4B 分别示出三个样品在  $4000-5000\text{ cm}^{-1}$  区域中单束和双束的光谱, 在所述三个样品中, 肌酸酐和尿素的浓度固定在其最低水平, 而葡萄糖浓度在其三种浓度水平之间变化。随变化的葡萄糖浓度而发生的最大光谱变化区域 ( $4700\text{ cm}^{-1}$ ) 对应于葡萄糖在水中的已知吸收波段。

使用部分最小平方 (PLS) 来分析在  $4000-8000\text{ cm}^{-1}$  光谱范围内 NIR 光谱的预计含量。选择某一样品作预计, 其余 26 个样品用作校准, 以评估在某一实验日内对分析物的预计。用这种方式对所有 27 个样品轮流进行, 以评估“交叉有效”的预计性能。对单束和双束方式获得的光谱作葡萄糖浓度的预计在图 5 中作了比较。从双束和单束光谱作葡萄糖浓度的预计标准误差 (SEP) 分别为 11.3 和 22.8 mg/Dl (即, 预计标准误差是预计浓度和参照浓度之间均方差的平方根)。与单束 FTIR 相比除了预计性能有改进外, 双束 FTIR 的校准模型也简单得多。这一点从 PLS 模型中 SEP 与因素数的关系图中可以看出 (图 6)。在最佳双束校准模型中只用了 5 个因素, 而单束校准模型用到 13 个因素时仍未达到最小的 SEP 值。

用第一日的数据作为校准组并预计随后的两日, 以评估经过多日的分析物预计。单束和双束技术分别在 12 和 4 个因素时的结果汇总在图 7A 和 7B。总之, 与单束 FTIR 相比, 双束技术显示出无论短期 (当天) 或长期 (超过 7 周) 都具有更好的对水溶液中分析物浓度的预计能力。

## II. 组织中葡萄糖的检测

对于含有弱吸收分析物的强散射样品, 例如哺乳动物组织中的

葡萄糖，前向或样品束可以采用反射模式，而反向或参照束可以是透射方式。

5 用来进行所述测量的仪器配置示于图 2。用一个氟化钙薄板将光分为前向束和后向束。由于在高散射组织中大部分光都会损失掉，故干涉仪总通量的 96%用作前向束，其余 4%用作通过参照单元的后向束。

10 参照单元的温度应调节到待测组织表面同样的温度，因为在光谱的近红外部分，水的光谱对温度十分敏感。可以在任一个或两个光束中使用衰减器以平衡检测器上的能量。利用氟化钙透镜将前向束聚焦到光纤束的输入端。光纤束将前向束引导到例如，被测量的人体的前臂上。在组织表面与输入光纤交织的是输出光纤，输出光纤将散射的且部分被吸收的光从组织引导到检测器。在检测器处与输出光纤交织的是参照(反向束)光纤，参照光纤将已通过参照单元的光也引导到检测器。检测器的选择应使其表面积略大于由交织的输出光纤束照射的总面积。样品和参照束在检测器表面直接组合，形成零束。

15 信号中的 D. C. 分量以电子学方式去除，A. C. 分量以电子学方式放大到接近符合模数(A/D)变换器的要求。即使样品束由散射光组成而参照束由基本上没有任何散射地透射过参照单元的光组成，零位比很容易达到约 20: 1。用双束信号符合 A/D 变换器所需的放大约比用单束信号高 20 倍。以模拟方式测量物体在随机的但已知的葡萄糖水平时的零位光谱，以进行校准，溶液光谱校准在下面说明。

25 从上述结果和讨论显而易见，本发明在利用 FTIR 作分析物检测方面提出了重要的突破。具体地说，本方法和设备克服了用 FTIR 测定组织中葡萄糖所遇到的原有问题，例如仪器漂移问题，需要使用高精度的 ADC 等，重要的是，本方法和设备能够提供血液分析物、例如葡萄糖等的高精确非侵入测量。在这方面，本发明是对本技术

领域的重大贡献。

在本说明中引用的所有公开和专利均作为参考包括在本文中，如同每一份单独的公开和专利均单独和分别作为参考包括在本文中一样。任何公开的引用是关于其在提交日之前的公开，不应被认为是承认由于原有的发明而本发明无权先期利用这类公开。

虽然为了清楚地理解的目的已经通过图示和实例对本发明作了较详细的说明，但是，对于本专业的技术人员来说，显然，在不背离所附权利要求书的精神或范围的情况下，可以对本发明进行某些变化和修改。

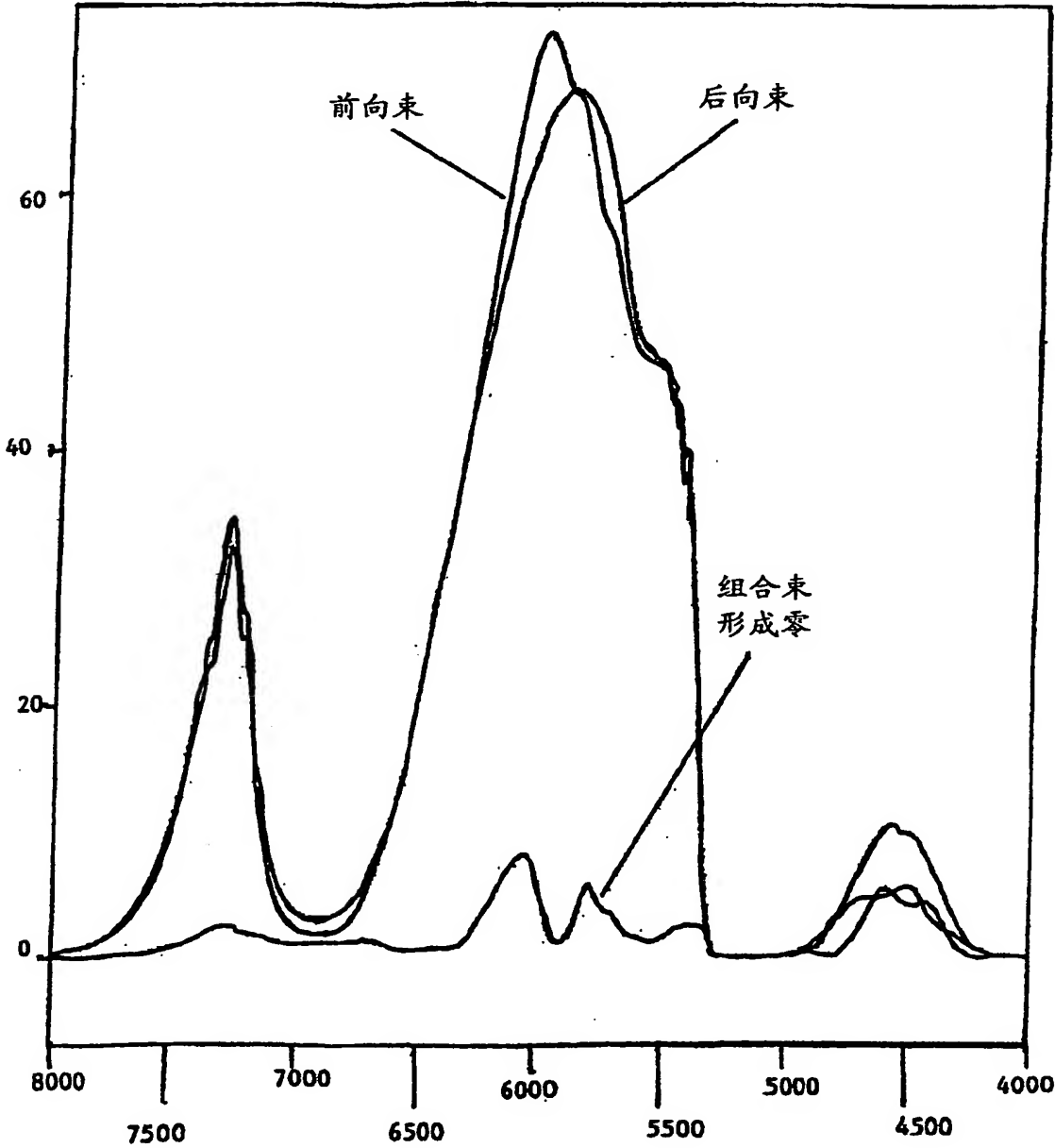
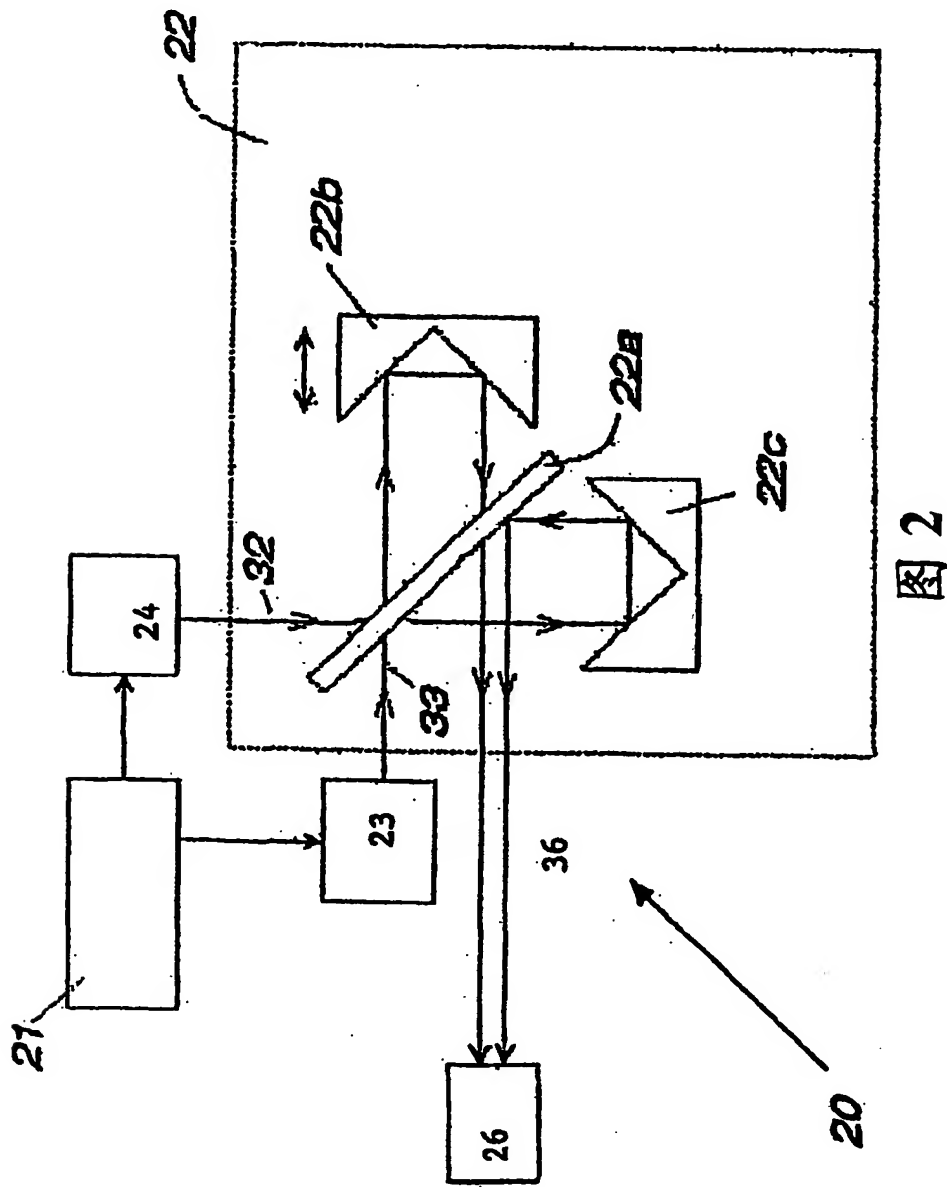


图 1





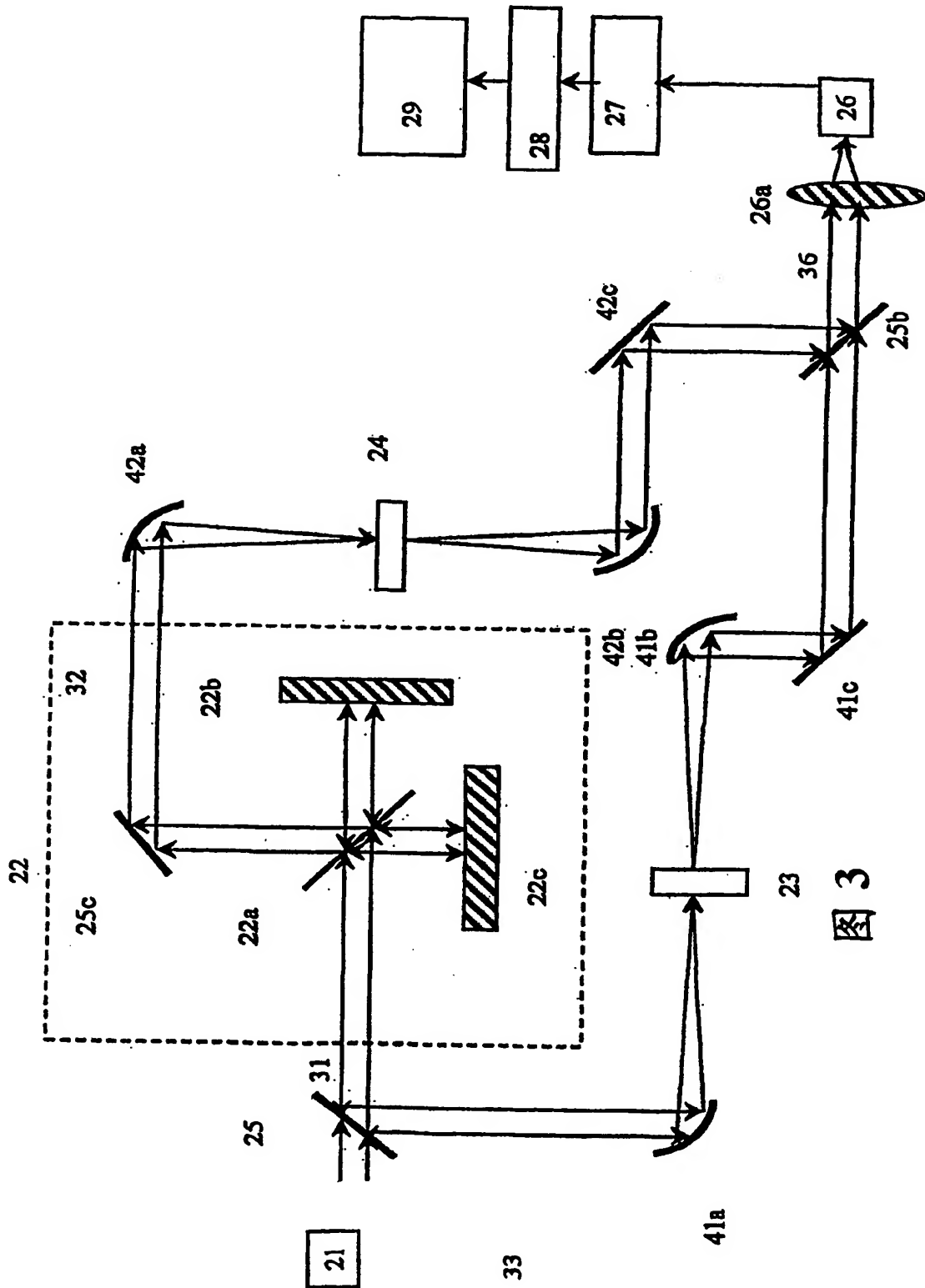


图 3

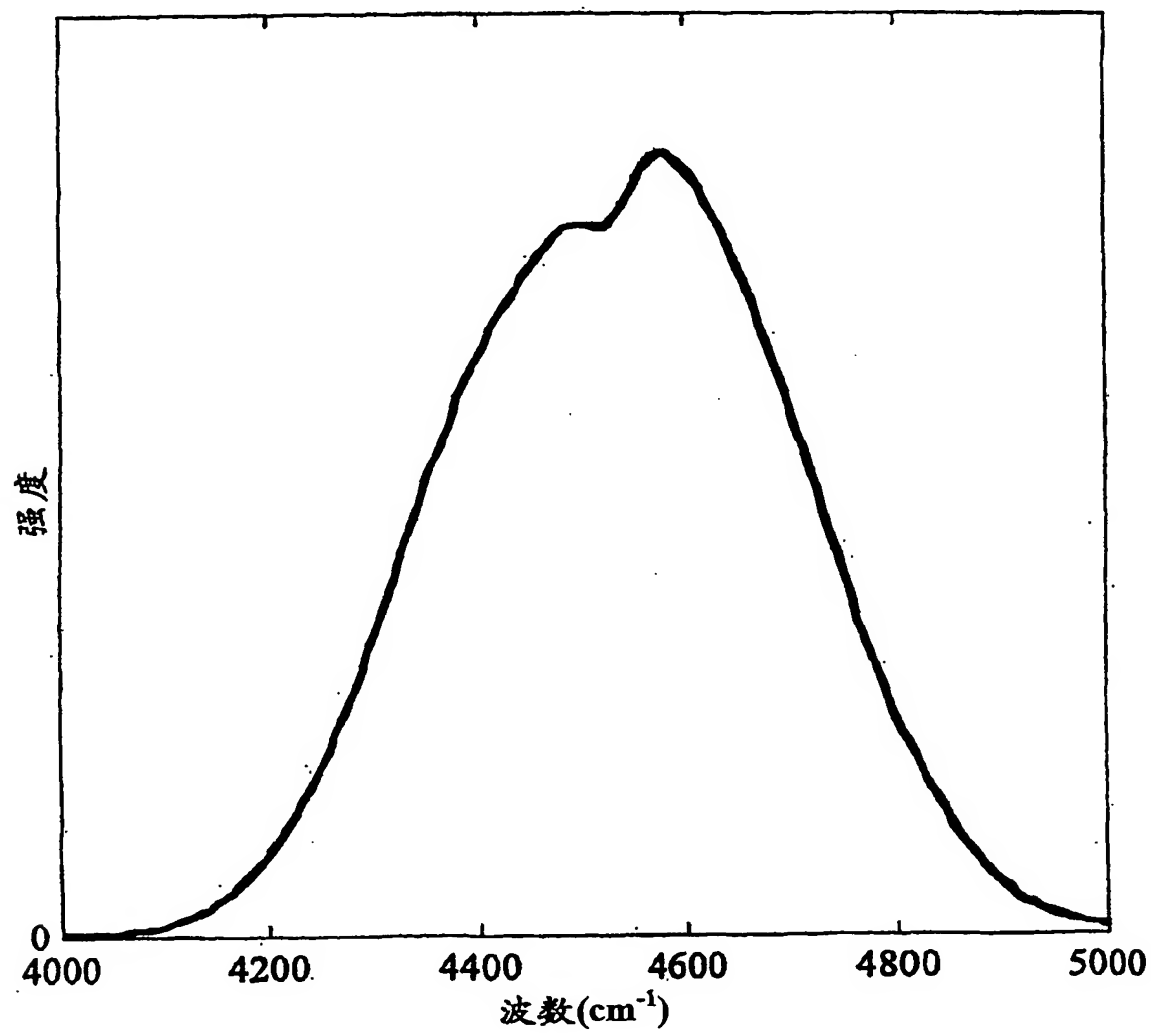


图 4A

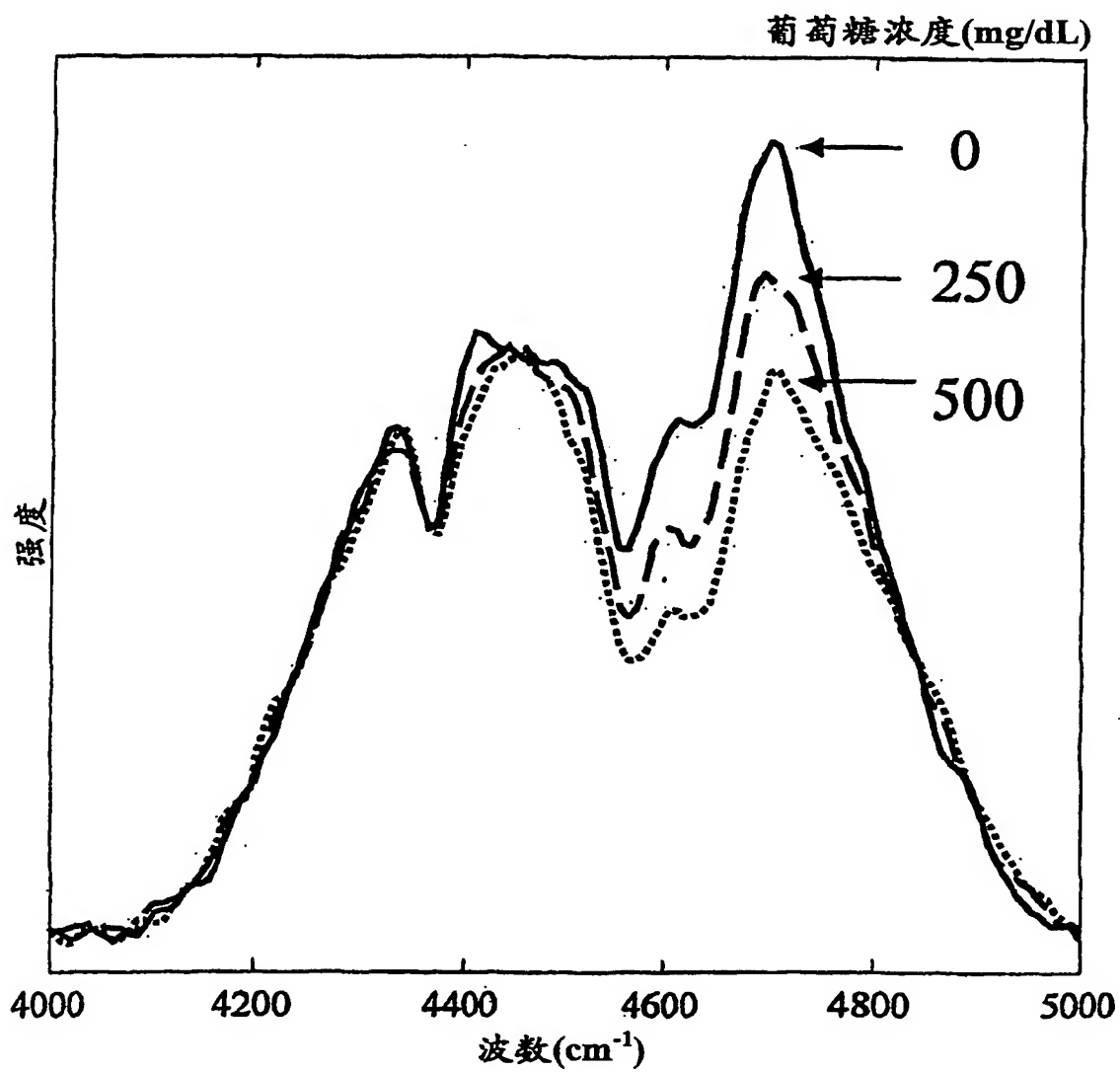


图 4B

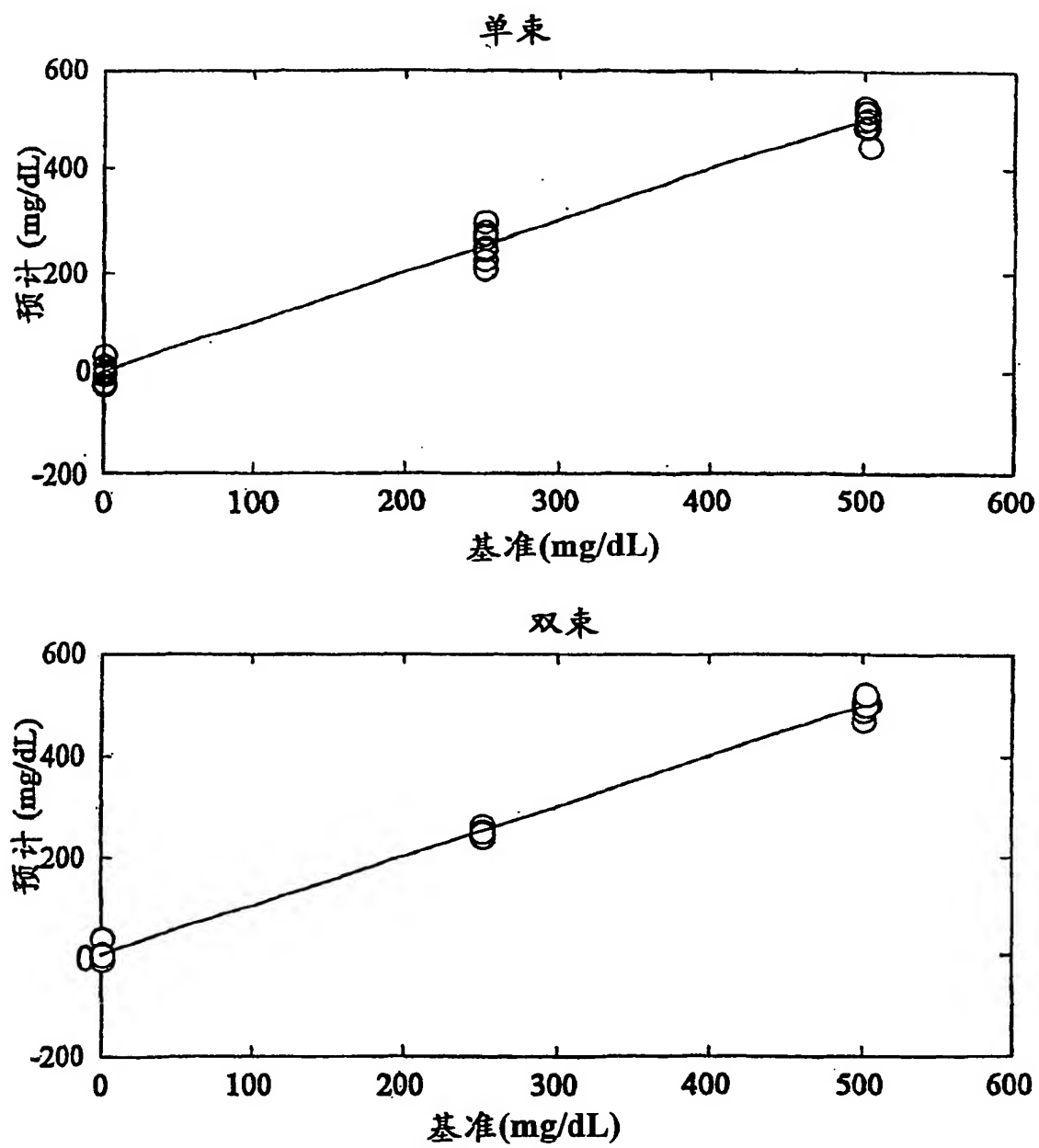


图 5

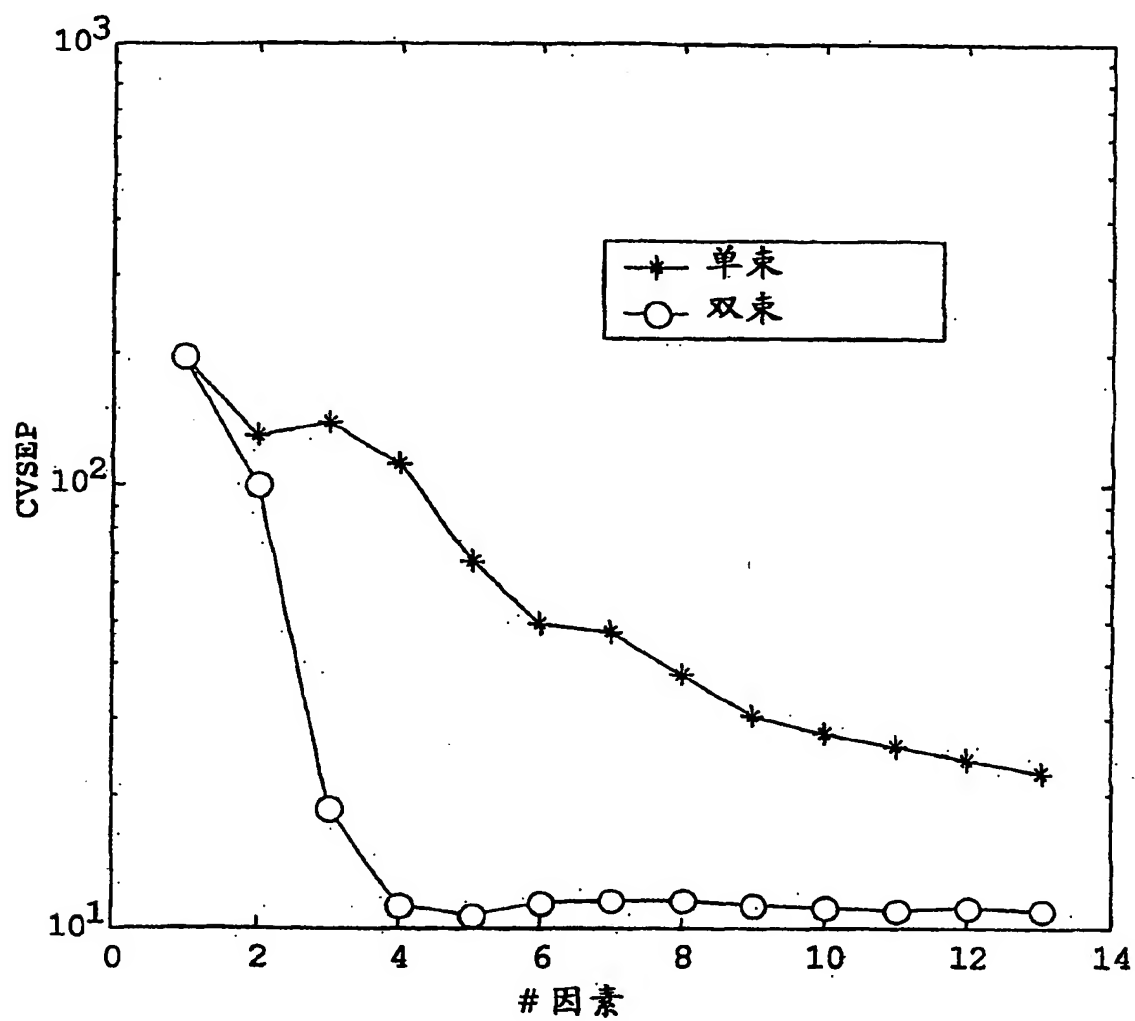


图 6

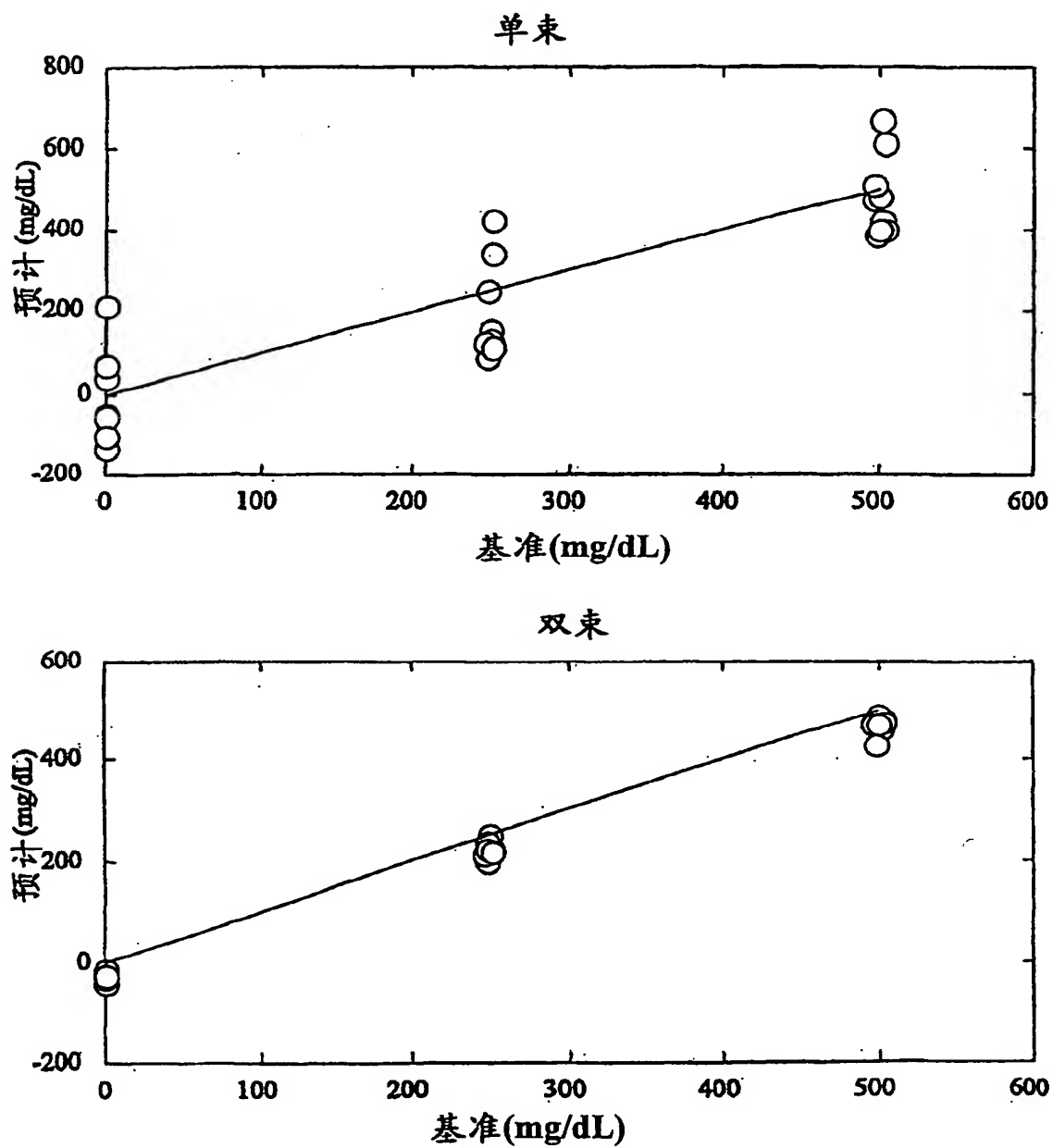


图 7A

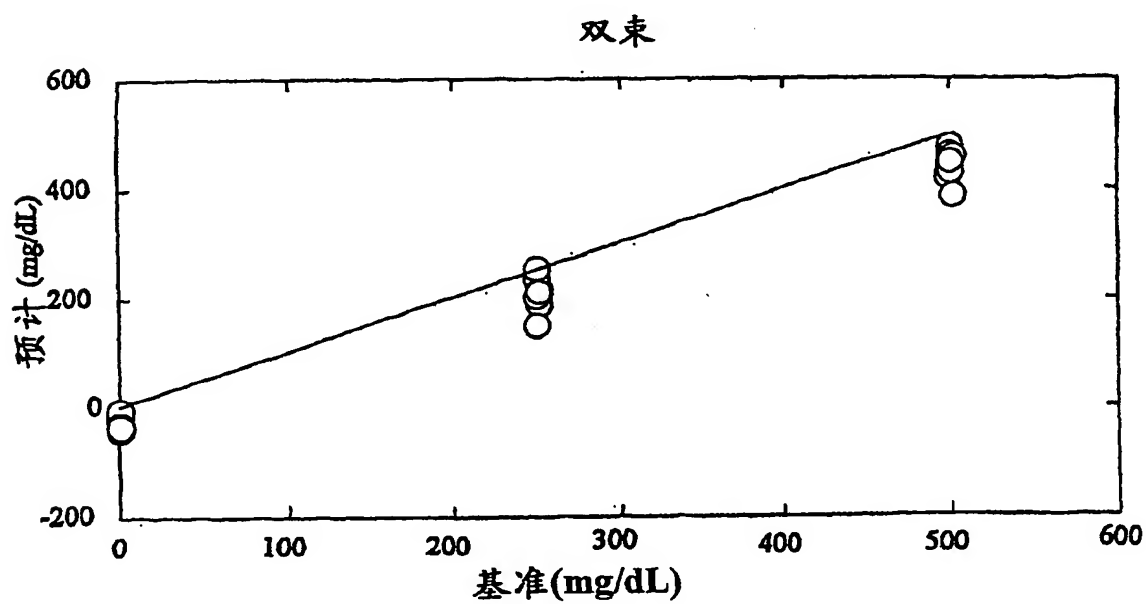
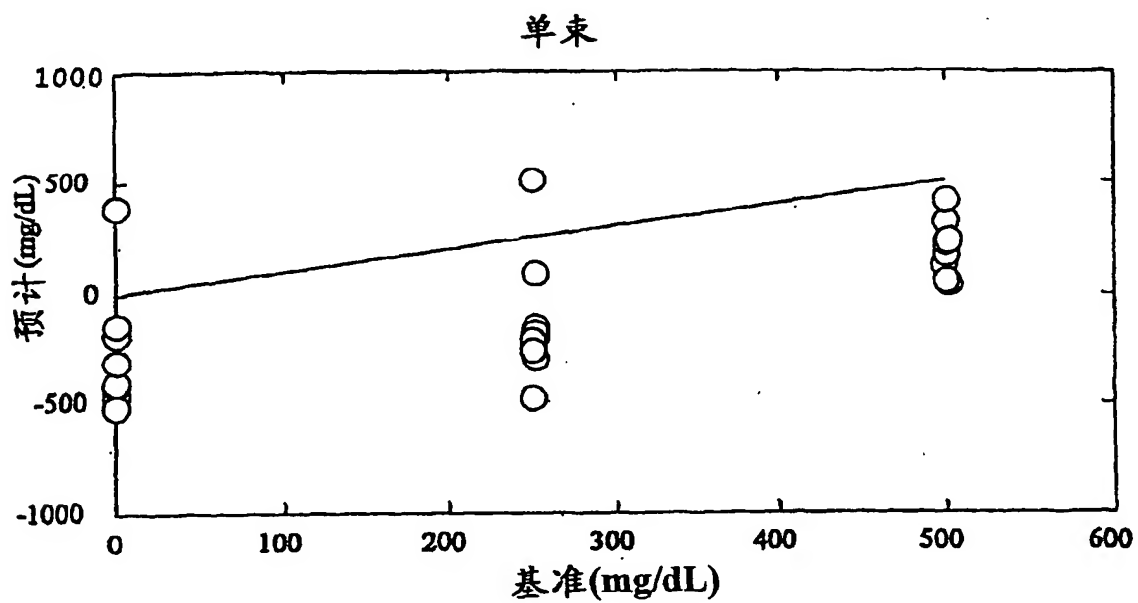


图 7B